

В. В. Марченков, Т. Н. Мельник, Н. Ю. Марченко, Г. В. Семисотнов

## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ШАПЕРОН GroEL: УВЕЛИЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ К ДЕЙСТВИЮ ТЕМПЕРАТУРЫ И ТРИПСИНА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ КОМПЛЕКСА С ДЕНАТУРИРОВАННЫМИ БЕЛКАМИ\*

Институт белка РАН, Российская Федерация, 142290, Московская область, Пущино, ул. Институтская, 4

Функциями белка теплового шока клеток *Escherichia coli* GroEL (HSP60), в частности, являются взаимодействие с полипептидными цепями, лишёнными жёсткой третичной структуры, и предотвращение их необратимой агрегации *in vivo* и *in vitro*. Исследовано влияние ряда субстратных денатурированных белков (лизозима, пепсина и сывороточного альбумина) на стабильность структуры GroEL к действию температуры (с помощью дифференциальной сканирующей микрокалориметрии) и протеазы (с помощью ограниченного трипсинолиза). Показано, что взаимодействие с денатурированными белками увеличивает стабильность GroEL тем больше, чем больше молекулярный вес взаимодействующих с ним субстратных белков. Результаты работы важны для понимания механизма взаимодействия субстратных белков с шапероном и принципов его структурной организации. Библиогр. 22 назв. Ил. 2. Табл. 1.

**Ключевые слова:** белки теплового шока, шаперонин GroEL, белок-белковые взаимодействия, калориметрия, ограниченный протеолиз.

V. V. Marchenkov, T. N. Melnik, N. Yu. Marchenko, G. V. Semisotnov

## THE MOLECULAR CHAPERONE GroEL IN COMPLEX WITH DENATURED PROTEINS: INCREASING STABILITY AGAINST TEMPERATURE AND TRYPSIN ACTION

Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, 4, ul. Institutsкая, Pushchino, Moscow Region, 142290, Russian Federation

One of the functions of the *Escherichia coli* heat shock protein GroEL (HSP60) is its interaction with polypeptide chains lacking a rigid tertiary structure and prevention of their irreversible aggregation both *in vivo* and *in vitro*. Here we investigated the effect of denatured substrate proteins (lysozyme, pepsin and serum albumin) on GroEL structural stability against temperature (differential scanning microcalorimetry) and protease action (limited trypsinolysis). It was shown that the interaction with denatured proteins increases GroEL stability, the greater the molecular weight of denatured substrate proteins, the higher the GroEL stability. The results are important for understanding the mechanism of the substrate protein interaction with the chaperone and the principle of GroEL structural organization. Refs 22. Figs 2. Tables 1.

**Keywords:** heat shock proteins, GroEL chaperonin, protein-protein interactions, calorimetry, limited proteolysis.

**Введение.** Белок теплового шока клеток *E. coli* GroEL (HSP60) широко известен как молекулярный шаперон, принимающий участие в сворачивании, трансмембранном

\* По материалам IV конференции «Современные проблемы молекулярной биофизики», посвящённой 50-летию специализации «Молекулярная биофизика» на физическом факультете и 105-летию со дня рождения профессора Э. В. Фрисман, 14–15 июня 2016 г., СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, URL: <http://molbioph.niif.spbu.ru/conference>.

Работа поддержана программой президиума РАН «Клеточная и молекулярная биология» (проект № 01201358029) и Российским научным фондом (грант РНФ № 14-24-00157).

© Санкт-Петербургский государственный университет, 2016

транспорте и деградации вновь синтезированных и денатурированных в результате различных стрессов клеточных белков [1, 2]. Он является слабой АТФ-азой и представляет гомоолигомер, состоящий из 14 идентичных субъединиц (м. в. 58 кДа), организованных в две гептамерные кольцевые структуры, взаимодействующие торцевыми поверхностями [3, 4]. В каждой субъединице выявлены три хорошо различимых структурных домена: экваториальный, связывающий АТФ и формирующий межсубъединичные контакты; апикальный, содержащий сайты связывания субстратных полипептидов и другого белка теплового шока гептамерного ко-шаперона GroES (HSP10), а также промежуточный домен, выполняющий роль «шарнира» между экваториальным и апикальным доменами при лиганд-индуцируемых широкомасштабных конформационных изменениях GroEL [4–6]. Кольцевая организация субъединиц тетрадекамерного GroEL приводит к наличию двух обширных внутренних полостей на обоих торцах его олигомерной структуры, связывающих разнообразные субстратные белковые молекулы [7, 8]. Прочность комплекса GroEL с субстратными белками обеспечивается неким балансом гидрофобных и электростатических взаимодействий [9, 10] и регулируется его лигандами [9, 11, 12]. Лиганды GroEL (ионы Mg, АДФ, АТФ и GroES) влияют не только на прочность его взаимодействия с субстратными белками, но и на его термостабильность [13].

В представляемой работе исследовано влияние на стабильность GroEL субстратных белков. Калориметрическое плавление комплексов GroEL с различными субстратными белками показывает стабилизацию структуры GroEL по отношению к действию температуры от 1 до 4 К. Кинетические исследования ограниченного трипсинолиза свободного GroEL и его комплексов с субстратными белками также свидетельствуют об уменьшении доступности сайтов атаки трипсина в GroEL при его взаимодействии с денатурированными белками. Показано, что чем больше молекулярный вес субстратного белка, тем стабильней структура GroEL по отношению к действию температуры и протеазы.

### Материалы и методы.

**1. Растворы и белки.** GroEL выделялся из клеток *Escherichia coli* после экспрессии в них соответствующей плазмиды согласно опубликованным методикам [14, 15]. В качестве субстратных белков использовались коммерческие препараты лизоцима куриного яйца, пепсина и бычьего сывороточного альбумина (Sigma и Serva) после дополнительной очистки методами ионообменной и гель-хроматографии. Чистота белковых препаратов анализировалась гель-электрофорезом в нативных и денатурирующих условиях. Денатурация белков осуществлялась разрывом внутримолекулярных дисульфидных связей в присутствии тиолового реагента (5мМ ДТТ), который не влияет на структурные и функциональные свойства GroEL [9, 16, 17]. Комплексы GroEL с денатурированными белками для физико-химических исследований готовились 10-кратным разбавлением денатурированных белков после их инкубации в течение 30 мин в присутствии 5мМ ДТТ в раствор GroEL до достижения отношения молярных концентраций GroEL : белок = 1 : 1 и понижения концентрации ДТТ до 0,5мМ, которая за время эксперимента не влияла на активность трипсина и на термодинамические параметры GroEL.

Концентрации белков определялись спектрофотометрически с использованием известных коэффициентов экстинкции [9, 16]. Все образцы готовились с использованием 50мМ HEPES, pH = 7,6, 100мМ KCl, 10мМ MgAc<sub>2</sub>.

**2. Физико-химические методы.** Микрокалориметрические эксперименты проводились на дифференциальном сканирующем микрокалориметре SCAL-1 (ООО «Скал»,

Россия) со стеклянной ячейкой объёмом 0,33 мл при скорости сканирования 1,0 К/мин, под давлением 2 атм [18]. Для получения значений парциальной теплоёмкости белка использовалась программа SCAL, основанная на алгоритмах, описанных в [19, 20]. Для получения кривых избыточной теплоёмкости проводили линейную экстраполяцию теплоёмкостей нативного и денатурированного состояний белка в область денатурационного перехода и вычитали их из значений парциальной теплоёмкости белка, используя «сигмоидальную» базовую линию [20]. Для всех расчётов принимали значение для парциального объёма белка равным 0,73 см<sup>3</sup>/г.

Калориметрическая энтальпия  $\Delta H_{\text{cal}}$  определялась как площадь под кривой зависимости избыточной теплоёмкости от температуры. Эффективная энтальпия (энтальпия Вант-Гоффа) определялась из кривой калориметрического плавления по формуле  $\Delta H_{\text{eff}} = 4RT_m^2 \Delta C_p(T_m) / \Delta H_{\text{cal}}$ , где  $R$  — универсальная газовая постоянная;  $T_m$  — температура, соответствующая максимуму кривой теплопоглощения;  $\Delta C_p(T_m)$  — значение избыточной теплоёмкости в  $T_m$  [19].

Кинетика ограниченного трипсинолиза измерялась при инкубации белка (0,5 мг/мл) с трипсином (молярное отношение GroEL : трипсин составляло 5 : 1). Трипсинолиз останавливался при помещении аликвот инкубационной смеси в буфер для денатурирующего электрофореза (0,3М Tris-HCl, pH = 7,0, 50% глицерина, 10% додецилсульфата натрия, 5%  $\beta$ -меркаптоэтанола, 2мМ ЭДТА натриевой соли) и кипячении в течение 1 мин. Площади окрашенных электрофоретических полос определялись с использованием программы TotalLab TL120 1Dv 2009 (Nonlinear Dynamics Ltd., Newcastle upon Tyne, UK).

**Результаты и обсуждение.** Ранее нами было показано, что используемые в качестве субстратных белков денатурированные белки прочно взаимодействуют с шапероном GroEL как в растворе, так и будучи ковалентно присоединенными к сефарозе [9, 16, 21]. На рис. 1 представлены кривые калориметрического плавления свободного GroEL и его комплексов с рядом денатурированных белков различного молекулярного веса (лизозим м. в. 14 кДа, пепсин м. в. 35 кДа и бычий сывороточный

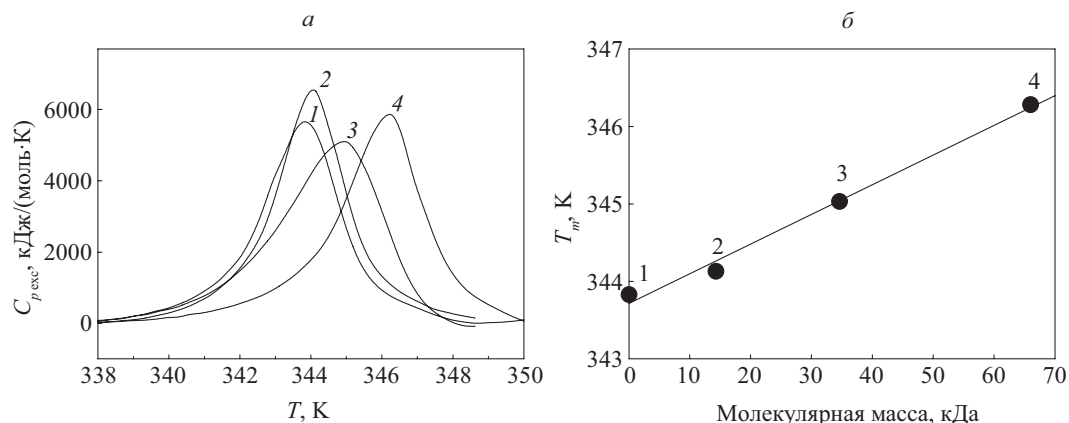


Рис. 1. Зависимость избыточной теплоёмкости свободного GroEL и его комплексов с денатурированным белком от температуры в буфере 50мМ HEPES, pH = 7,6, 100мМ KCl, 10мМ MgAc<sub>2</sub> (а); зависимость температуры максимума пика теплопоглощения  $T_m$  от молекулярной массы белка-мишени (б):

1 — свободный GroEL; GroEL в комплексе с денатурированными белками: 2 — лизоцимом, 3 — пепсином, 4 — бычьим сывороточным альбумином

альбумин м. в. 66 кДа). Видно, что формирование комплекса GroEL с субстратными белками заметно стабилизирует его структуру по отношению к действию температуры и стабилизация тем больше, чем больше молекулярный вес субстратного белка.

В таблице приведены некоторые термодинамические параметры тепловой денатурации свободного GroEL и его комплексов с различными денатурированными белками. Интересно, что отношение калориметрической энтальпии к эффективной (энтальпии Ван-Гоффа) в пределах ошибки близко к 14, т. е. к количеству субъединиц в GroEL. Это означает, что если бы калориметрическая энтальпия рассчитывалась на молярную концентрацию не олигомера, а мономера, то значения калориметрической и эффективной энтальпий совпадали бы в пределах погрешности. Следовательно, основным термодинамическим блоком в структуре GroEL является субъединица, а межсубъединичные контакты имеют малый энтальпийный вклад.

**Термодинамические параметры калориметрического плавления GroEL  
в отсутствие и в присутствии денатурированных белков**

Образец	Концентрация GroEL, мг/мл	Температура максимума $T_m$ , К	Калориметрическая энтальпия $\Delta H_{cal}$ , кДж/(моль·К)	Эффективная энтальпия $\Delta H_{eff}$ , кДж/(моль·К)	Число термодинамических блоков $\Delta H_{cal}/\Delta H_{eff}$
GroEL	1,18	343,83	$17000 \pm 500$	$1200 \pm 50$	$14 \pm 1$
GroEL+ лизозим (14 кДа)	1,08	344,13	$16400 \pm 500$	$1300 \pm 50$	$13 \pm 1$
GroEL+ пепсин (35 кДа)	1,20	345,03	$19600 \pm 500$	$1300 \pm 50$	$15 \pm 1$
GroEL+ BCA (66 кДа)	1,16	346,02	$18000 \pm 500$	$1300 \pm 50$	$15 \pm 1$

Такое предположение имеет под собой структурное обоснование. Во-первых, апи-кальные домены субъединиц GroEL обладают определенной подвижностью [4–6], которая, возможно, и обеспечивает широкий набор субстратных полипептидов различного размера [2, 9] и взаимодействие с ко-шапероном GroES [2, 6]. Во-вторых, связывание белковых субстратов осуществляется через многоточечные взаимодействия с подвижными апикальными доменами во внутренней полости GroEL [2, 22], и чем больше молекулярный вес субстратного белка, тем с большим количеством субъединиц шаперона он взаимодействует [2, 22]. Таким образом, связывание субстратного белка может ограничивать внутримолекулярную подвижность в тетрадекамерной GroEL-частице и тем самым приводить к увеличению её термостабильности.

Ограничение внутримолекулярной подвижности GroEL при взаимодействии с субстратными белками косвенно подтверждается и ограниченным протеолизом (рис. 2). Кинетика ограниченного протеолиза субъединиц GroEL заметно замедляется при взаимодействии с субстратными белками. При этом, чем крупнее субстратный белок тем медленнее кинетика ограниченного протеолиза.

**Заключение.** Приведённые в работе экспериментальные результаты наводят на мысль, что стабилизация структуры шаперона GroEL при взаимодействии с субстрат-

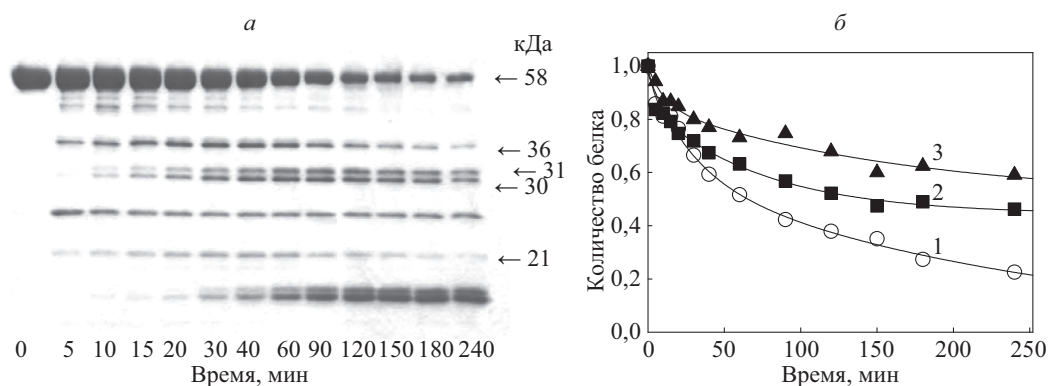


Рис. 2. Кинетика ограниченного протеолиза свободного GroEL и GroEL в комплексе с денатурированными белками: а — денатурирующий ПААГ-электрофорез продуктов протеолитического расщепления GroEL трипсином (соотношение GroEL : трипсин = 5 : 1). Справа указаны молекулярные массы основных фрагментов GroEL, определённые из их электрофоретической подвижности. Внизу указано соответствующее время инкубации с трипсином: б — кинетика протеолитической деградации субъединицы GroEL (58 кДа) в отсутствие (1) и в присутствии денатурированного лизоцима (2) и пепсина (3)

ными белками может помогать ему «выживать» в стрессовых для клетки условиях (повышенные температуры и др.). Кроме того, отсутствие вклада (или незначительный вклад) межсубъединичных контактов в калориметрическую энтальпию GroEL свидетельствует о том, что олигомерная структура шаперона поддерживается небольшим количеством энергетических связей и поэтому может быть легко нарушена в результате мутаций [2, 15].

## Литература

1. Gething M. J., Sambrook J. Protein folding in the cell // *Nature*. 1992. Vol. 355, N 6355. P. 33–45.
2. Horwich A. L., Fenton W. A. Chaperonin-mediated protein folding: using a central cavity to kinetically assist polypeptide chain folding // *Q. Rev. Biophys.* 2009. Vol. 42, N 2. P. 83–116.
3. Roseman A. M., Chen S., White H., Braig K., Saibil H. R. The chaperonin ATPase cycle: mechanism of allosteric switching and movements of substrate-binding domains in GroEL // *Cell*. 1996. Vol. 87, N 2. P. 241–251.
4. Braig K., Otwinowski Z., Hegde R., Boisvert D. C., Joachimiak A., Horwich A. L., Sigler P. B. The crystal structure of the bacterial chaperonin GroEL at 2.8 Å // *Nature*. 1994. Vol. 371, N 6498. P. 578–586.
5. Boisvert D. C., Wang J., Otwinowski Z., Horwich A. L., Sigler P. B. The 2.4 Å crystal structure of the bacterial chaperonin GroEL complexed with ATP gamma S // *Nat. Struct. Biol.* 1996. Vol. 3, N 2. P. 170–177.
6. Xu Z., Horwich A. L., Sigler P. B. The crystal structure of the asymmetric GroEL–GroES–(ADP)7 chaperonin complex // *Nature*. 1997. Vol. 388, N 6644. P. 741–750.
7. Falke S., Tama F., Brooks C. L. 3rd, Gogol E. P., Fisher M. T. The 13 angstroms structure of a chaperonin GroEL-protein substrate complex by cryo-electron microscopy // *J. Mol. Biol.* 2005. Vol. 348, N 1. P. 219–230.
8. Clare D. K., Bakkes P. J., van Heerikhuizen H., van der Vies S. M., Saibil H. R. Chaperonin complex with a newly folded protein encapsulated in the folding chamber // *Nature*. 2009. Vol. 457, N 7225. P. 107–110.
9. Марченко Н. Ю., Марченко В. В., Кайшева А. Л., Кашпаров И. А., Котова Н. В., Калиман П. А., Семисотнов Г. В. Аффинная хроматография шаперонина GroEL на основе денатурированных белков: роль электростатических взаимодействий в регуляции сродства GroEL к белковым субстратам // *Биохимия*. 2006. Т. 71, № 12. С. 1668–1676.
10. Pack C. G., Nishimura G., Tamura M. et al. Analysis of interaction between chaperonin GroEL and its substrate using fluorescence correlation spectroscopy // *Cytometry*. 1999. Vol. 36. P. 247–253.

11. Staniforth R. A., Burston S. G., Atkinson T., Clarke A. R. Affinity of chaperonin-60 for a protein substrate and its modulation by nucleotides and chaperonin-10 // *Biochem. J.* 1994. Vol. 300. Part 3. P. 651–658.
12. Marchenkov V. V., Semisotnov G. V. GroEL-assisted protein folding: does it occur within the chaperonin inner cavity? // *Int. J. Mol. Sci.* 2009. Vol. 10, N 5. P. 2066–2083.
13. Surin A. K., Kotova N. V., Kashparov I. A., Marchenkov V. V., Marchenkova S. Yu., Semisotnov G. V. Ligands regulate GroEL thermostability // *FEBS Lett.* 1997. Vol. 405, N 3. P. 260–262.
14. Lissin N. M., Venyaminov S. Yu., Girshovich A. S. (Mg-ATP)-dependent self-assembly of molecular chaperone GroEL // *Nature*. 1990. Vol. 348, N 6299. P. 339–342.
15. Weissman J. S., Hohl C. H., Kovalenko O., Chen S., Braig K., Saibil H. R., Fenton W. A., Horwich A. L. Mechanism of GroEL action: productive release of polypeptide from sequestered position under GroES // *Cell*. 1995. Vol. 83. P. 577–587.
16. Marchenko N. Y., Sikorskaya E. V., Marchenkov V. V., Kashparov I. A., Semisotnov G. V. Affinity chromatography of chaperones based on denatured proteins: Analysis of cell lysates of different origin // *Protein Expr. Purif.* 2016. Vol. 119. P. 117–123.
17. Ryabova N., Marchenkov V., Kotova N., Semisotnov G. Chaperonin GroEL reassembly: an effect of protein ligands and solvent composition // *Biomolecules*. 2014. Vol. 4, N 2. P. 458–473.
18. Senin A. A., Potekhin S. A., Tiktupulo E. I., Filimonov V. V. Differential scanning microcalorimeter SCAL-1 // *J. Therm. Anal. Cal.* 2000. Vol. 62. P. 153–160.
19. Privalov P. L. Stability of proteins: small globular proteins // *Adv. Protein Chem.* 1979. Vol. 33. P. 167–241.
20. Privalov P. L., Potekhin S. A. Scanning microcalorimetry in studying temperature-induced changes in proteins // *Methods Enzymol.* 1986. Vol. 131. P. 4–51.
21. Marchenkov V. V., Marchenko N. Y., Kaysheva A. L., Kotova N. V., Kashparov I. A., Semisotnov G. V. Dataset concerning GroEL chaperonin interaction with proteins // *Data Brief*. 2016. Vol. 6. P. 619–624.
22. Farr G. W., Furtak K., Rowland M. C. et al. Multivalent binding of non-native substrate proteins by the chaperonin GroEL // *Cell*. 2000. Vol. 100. P. 561–573.

## References

1. Gething M. J., Sambrook J. Protein folding in the cell. *Nature*, 1992, vol. 355, no. 6355, pp. 33–45.
2. Horwich A. L., Fenton W. A. Chaperonin-mediated protein folding: using a central cavity to kinetically assist polypeptide chain folding. *Q. Rev. Biophys.*, 2009, vol. 42, no. 2, pp. 83–116.
3. Roseman A. M., Chen S., White H., Braig K., Saibil H. R. The chaperonin ATPase cycle: mechanism of allosteric switching and movements of substrate-binding domains in GroEL. *Cell*, 1996, vol. 87, no. 2, pp. 241–251.
4. Braig K., Otwinowski Z., Hegde R., Boisvert D. C., Joachimiak A., Horwich A. L., Sigler P. B. The crystal structure of the bacterial chaperonin GroEL at 2.8 Å. *Nature*, 1994, vol. 371, no. 6498, pp. 578–586.
5. Boisvert D. C., Wang J., Otwinowski Z., Horwich A. L., Sigler P. B. The 2.4 Å crystal structure of the bacterial chaperonin GroEL complexed with ATP gamma S. *Nat. Struct. Biol.*, 1996, vol. 3, no. 2, pp. 170–177.
6. Xu Z., Horwich A. L., Sigler P. B. The crystal structure of the asymmetric GroEL–GroES–(ADP)7 chaperonin complex. *Nature*, 1997, vol. 388, no. 6644, pp. 741–750.
7. Falke S., Tama F., Brooks C. L. 3rd, Gogol E. P., Fisher M. T. The 13 angstroms structure of a chaperonin GroEL-protein substrate complex by cryo-electron microscopy. *J. Mol. Biol.*, 2005, vol. 348, no. 1, pp. 219–230.
8. Clare D. K., Bakkes P. J., van Heerikhuizen H., van der Vies S. M., Saibil H. R. Chaperonin complex with a newly folded protein encapsulated in the folding chamber. *Nature*, 2009, vol. 457, no. 7225, pp. 107–110.
9. Marchenko N. Iu., Marchenkov V. V., Kaisheva A. L., Kashparov I. A., Kotova N. V., Kaliman P. A., Semisotnov G. V. Affinnaia khromatografiia shaperonina GroEL na osnove denaturirovannykh belkov: rol' elektrostatischeskikh vzaimodeistvii v regulatsii srodstva GroEL k belkovym substratam [Affine chromatography of a shaperonin of GroEL on the basis of the denatured proteins: a role of electrostatic interactions in regulation of affinity of GroEL to proteinaceous substrata]. *Biokhimiia* [Biochemistry], 2006, vol. 71, no. 12, pp. 1668–1676. (In Russian)
10. Pack C. G., Nishimura G., Tamura M. et al. Analysis of interaction between chaperonin GroEL and its substrate using fluorescence correlation spectroscopy. *Cytometry*, 1999, vol. 36, pp. 247–253.



11. Staniforth R. A., Burston S. G., Atkinson T., Clarke A. R. Affinity of chaperonin-60 for a protein substrate and its modulation by nucleotides and chaperonin-10. *Biochem. J.*, 1994, vol. 300, part 3, pp. 651–658.
12. Marchenkov V. V., Semisotnov G. V. GroEL-assisted protein folding: does it occur within the chaperonin inner cavity? *Int. J. Mol. Sci.*, 2009, vol. 10, no. 5, pp. 2066–2083.
13. Surin A. K., Kotova N. V., Kashparov I. A., Marchenkov V. V., Marchenkova S. Yu., Semisotnov G. V. Ligands regulate GroEL thermostability. *FEBS Lett.*, 1997, vol. 405, no. 3, pp. 260–262.
14. Lissin N. M., Venyaminov S. Yu., Girshovich A. S. (Mg-ATP)-dependent self-assembly of molecular chaperone GroEL. *Nature*, 1990, vol. 348, no. 6299, pp. 339–342.
15. Weissman J. S., Hohl C. H., Kovalenko O., Chen S., Braig K., Saibil H. R., Fenton W. A., Horwich A. L. Mechanism of GroEL action: productive release of polypeptide from sequestered position under GroES. *Cell*, 1995, vol. 83, pp. 577–587.
16. Marchenko N. Y., Sikorskaya E. V., Marchenkov V. V., Kashparov I. A., Semisotnov G. V. Affinity chromatography of chaperones based on denatured proteins: Analysis of cell lysates of different origin. *Protein Expr. Purif.*, 2016, vol. 119, pp. 117–123.
17. Ryabova N., Marchenkov V., Kotova N., Semisotnov G. Chaperonin GroEL reassembly: an effect of protein ligands and solvent composition. *Biomolecules*, 2014, vol. 4, no. 2, pp. 458–473.
18. Senin A. A., Potekhin S. A., Tiktopulo E. I., Filimonov V. V. Differential scanning microcalorimeter SCAL-1. *J. Therm. Anal. Cal.*, 2000, vol. 62, pp. 153–160.
19. Privalov P. L. Stability of proteins: small globular proteins. *Adv. Protein Chem.*, 1979, vol. 33, pp. 167–241.
20. Privalov P. L., Potekhin S. A. Scanning microcalorimetry in studying temperature-induced changes in proteins. *Methods Enzymol.*, 1986, vol. 131, pp. 4–51.
21. Marchenkov V. V., Marchenko N. Y., Kaysheva A. L., Kotova N. V., Kashparov I. A., Semisotnov G. V. Dataset concerning GroEL chaperonin interaction with proteins. *Data Brief.*, 2016, vol. 6, pp. 619–624.
22. Farr G. W., Furtak K., Rowland M. C. et al. Multivalent binding of non-native substrate proteins by the chaperonin GroEL. *Cell*, 2000, vol. 100, pp. 561–573.

Статья поступила в редакцию 30 июня 2016 г.

#### Контактная информация

Марченков Виктор Викторович — кандидат биологических наук; e-mail: march@phys.protres.ru

Мельник Татьяна Николаевна — кандидат физико-математических наук;

e-mail: tmelnik@vega.protres.ru

Марченко Наталья Юрьевна — кандидат биологических наук; e-mail: lita@phys.protres.ru

Семисотнов Геннадий Васильевич — доктор физико-математических наук, профессор;

e-mail: nina@vega.protres.ru

Marchenkov Victor Victorovich — PhD; e-mail: march@phys.protres.ru

Melnik Tatiana Nikolaevna — PhD; e-mail: tmelnik@vega.protres.ru

Marchenko Natalia Yurievna — PhD; e-mail: lita@phys.protres.ru

Semisotnov Gennady Vasilievich — Doctor of Physics and Mathematics, Professor;

e-mail: nina@vega.protres.ru